

Neutralisation du virus de la maladie de Carré par le sérum contre la peste bovine

par P. GORET, J. FONTAINE, C. MACKOWIAK, Ch. PILET
et T. CAMARA

Poursuivant l'étude de l'immunité croisée mise en évidence entre la maladie de Carré et la peste bovine (1, 2, 3), il était indispensable conformément au plan de travail institué pour déceler la valeur, la durée et la nature de cette immunité de rechercher et, le cas échéant, de titrer les anticorps spécifiques des deux virus éventuellement présents dans les sérums hétérologues correspondants. Nos essais concernant la détection d'anticorps fixant le complément ont échoué. Cet échec confirme la même constatation relevée par POLDING et SIMPSON (5). Nous rendons compte aujourd'hui de nos résultats détaillés concernant la neutralisation du virus de Carré par le sérum antipestique bovin, résultats dont un aperçu a été antérieurement publié (6).

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

1. Sérums

Nous avons disposé de sérums obtenus classiquement par hypérimmunisation de bovins à l'aide de souches sauvages du virus de la peste bovine. Ces sérums provenaient des laboratoires centraux de l'élevage de Dakar et Farcha (Fort-Lamy) et de l'Institut Pasteur de Nha-Trang (*).

Ces sérums ont été dénommés selon leur provenance : sérum Dakar, sérum Farcha, sérum Nha-Trang (échantillons n° 25, n° 87, n° 144 et mélange des trois).

Nous disposons en outre d'échantillons témoins compre-

(*) Nous tenons à remercier bien vivement nos confrères et amis les docteurs P. MORNET, A. PROVOST et M. HUARD qui ont mis aimablement ces sérums à notre disposition.

nant des sérums issus de veaux non immunisés, de veau vacciné par virus formolé depuis 4 jours et de veau séro-infecté 48 heures avant le prélèvement de sang.

2. Technique

Nous avons adopté les techniques récemment précisées ici-même par l'un de nous (7, 8) ; les deux procédés de séro-neutralisation « *in ovo* » et « *in vivo* » ont été mis en œuvre.

II. — RÉSULTATS

A. — *Epreuves de séro-neutralisation « in ovo »*

Elles sont consignées dans le tableau I et indiquent que les échantillons de sérum contre la peste bovine neutralisent le virus de Carré adapté à l'œuf embryonné. Les sérums normaux d'animaux « neufs » (veaux de Nha-Trang ou bœufs de France) ne recèlent en revanche aucun anticorps neutralisant ce virus.

La valeur moyenne d'un sérum de référence (sérum de chiens hyperimmunisés) atteignant le titre de $10^{2,6}$, on se rend compte que les titres obtenus avec les sérums antibovipestiques correspondent selon les cas à un sérum très bon ($10^{2,3}$), bon ($10^{1,9}$), moyen ($10^{1,79}$) et faible ($10^{1,27}$).

B. — *Epreuves de séro-neutralisation « in vivo »*

L'un de nous (8) a montré qu'il existe un parallélisme à peu près parfait entre les résultats obtenus par les techniques de séro-neutralisation *in ovo* et *in vivo* appliquées au titrage des sérums anti-virus de Carré. Le fait se vérifie parfaitement par la constatation de l'action neutralisante du sérum antibovipestique vis-à-vis du virus de la maladie de Carré chez le furet.

Quatre sérums ont été soumis à l'épreuve : le sérum Farcha, le sérum Nha-Trang n° 144 le sérum Nha-Trang mélange (dont, rappelons-le, les titres respectifs *in ovo* sont de $10^{1,95}$, $10^{2,32}$ et $10^{1,92}$) et le sérum de veau neuf Nha-Trang n° 1.

Les résultats sont consignés dans le tableau II. Ils démontrent que les sérums antibovipestiques soumis au titrage à la dose de 1 ml se révèlent capables de neutraliser de 5.000 à 20.000 DMI50 de virus de Carré chez le furet.

TABLEAU I. — Epreuves de sero-neutralisation *in ovo*.

Nature du sérum	Dilutions du sérum	Appréciation des lésions des membranes (6-8 œufs par dil.) (1)	Résultats Titre <i>in ovo</i> 50 p. 100 (2)
Sérum Dakar	$10^{-0,6} = 1/4$ $10^{-1,2} = 1/16$ $10^{-1,8} = 1/64$ $10^{-2,4} = 1/256$ $10^{-3} = 1/1024$ $10^{-3,6} = 1/4096$	+ + O O O O O O O O O O O O M M + + O O O O M M + + + O O O M M + + + + O M M M + + + + + + + O	$10^{2,3} = 200 = 1.000$ U.N. 50/ml
Sérums Nha-Trang			
N° 144	$10^{-1,8} = 1/64$ $10^{-2,4} = 1/256$ $10^{-3} = 1/1024$ $10^{-3,6} = 1/4096$	O O O O M M M + + + + O O O + + + + + + + + + + + + + M	$10^{2,32} = 210 = 1.050$ U.N. 50/ml
N° 25	$10^{-1,5} = 1/32$ $10^{-2,1} = 1/128$ $10^{-2,7} = 1/512$	O O O O O + M + + + + + + M O + + + + + +	$10^{1,79} = 62 = 310$ U.N. 50/ml
N° 87	$10^{-1,5} = 1/32$ $10^{-2,1} = 1/128$ $10^{-2,7} = 1/512$	O O O O + + + + + + + + + + + + + + + + +	$10^{1,27} = 19 = 95$ U.N. 50/ml
Mélange	$10^{-1,5} = 1/32$ $10^{-2,1} = 1/128$ $10^{-2,7} = 1/512$	O O O O O O O + + + + M O + + + + +	$10^{1,92} = 83 = 415$ U.N. 50/ml
Sérum Farcha	$10^{-1,5} = 1/32$ $10^{-2,1} = 1/128$ $10^{-0,6} = 1/4$	O + + + + + O O O O O + O O O + + +	$10^{1,95} = 90 = 450$ U.N. 50/ml

Nature du sérum	Dilutions du sérum	Appréciation des lésions des membranes (6-8 œufs par dil.) (1)	Résultats Titre <i>in ovo</i> 50 p. 100 (2)
Sérums témoins de Nha-Trang			
Veau 4 jours après vaccination	$10^{-2,7} = 1/512$ $10^{-0,9} = 1/8$ $10^{-1,2} = 1/16$ $10^{-1,5} = 1/32$	+ + + + O O M + + + + + O M + + + + + O O + + + + + + +	Incalculable
Veau 48 heures après séro-infection	$10^{-0,6} = 1/4$ $10^{-0,9} = 1/8$ $10^{-1,2} = 1/16$ $10^{-1,5} = 1/32$	+ + + + + + + O O + + + + + + + + + + + M O + + + + + M	Incalculable
Veau neuf n° 1	$10^{-0,6} = 1/4$ $10^{-0,9} = 1/8$ $10^{-1,2} = 1/16$ $10^{-1,5} = 1/32$	O + + + + M M O O + + M M M + + + + M M M + + + + + + +	= 0
Veau neuf n° 2	$10^{-0,6} = 1/4$ $10^{-0,9} = 1/8$ $10^{-1,2} = 1/16$ $10^{-1,5} = 1/32$	+ + + + + M M O O + + M M M + + + + M M M + + + + + + +	= 0
Veau neuf n° 3	$10^{-0,6} = 1/4$ $10^{-0,9} = 1/8$ $10^{-1,2} = 1/16$ $10^{-1,5} = 1/32$	O + + + + + M O + + + + + M O + + + M M M O O + + + + +	= 0
Veau neuf n° 5	$10^{-0,6} = 1/4$ $10^{-0,9} = 1/8$ $10^{-1,2} = 1/16$ $10^{-1,5} = 1/32$	+ + + + + M M O + + + + + + + + + M M M M + + + + + M M	= 0

Nature du sérum	Dilutions du sérum	Appréciation des lésions des membranes (6-8 œufs par dil.) (1)	Résultats Titre <i>in ovo</i> 50 p. 100 (2)
Sérums témoins boeufs de France			
N° 576. VIII	10 ^{-0,6} = 1/4 10 ^{-1,9} = 1/16	+ + + + O M M M + + + O O M M M	= O
N° 581. IV	10 ^{-0,6} = 1/4 10 ^{-1,2} = 1/16 10 ^{-1,8} = 1/64 10 ^{-2,4} = 1/256	+ + M M M M + + + + M M + + M M M M + + + + M M	= O
N° 579. VIII	10 ^{-0,6} = 1/4 10 ^{-1,2} = 1/16	+ + + + + + M O + + M M M M	= O
<p>(1) Légende : + = membrane avec lésions. O = membrane sans lésion. M = embryon mort.</p> <p>(2) Rappelons que le calcul des unités neutralisantes s'opère de la façon suivante : Soit un sérum qui, à la dilution de 1/200, neutralise le virus dans 50 p. 100 des embryons, comme 100 D.M.I. 50 p. 100 sont inoculées à chaque œuf (0.2 ml d'inoculat) ce sérum titre 100.000 unités anti-infectieuses 50 p. 100 par ml de sérum, soit 1.000 unités neutralisantes 50 p. 100 par ml de sérum (=U.N. 50/ml), l'unité neutralisante à 50 p. 100 étant la quantité de sérum neutralisant le virus inoculé à un œuf, c'est-à-dire 100 D.M.I. 50.</p>			

TABLEAU II. — Epreuve de sero-neutralisation *in vivo*.

Quantité de virus inoc (2)	Nature des sérums				Furets témoins (virus seul)		Titre <i>in vivo</i> (3)
	Sérum Farcha - Titre <i>in ovo</i> = $10^{1,95}$				1 ^{er} essai	2 ^e essai	
	Premier essai		Deuxième essai		Lect. 7 jrs	Lect. 13 jrs	
	Lecture à 7 jrs (1)	Lect. à 13 jrs	Lecture à 7 jrs	Lect. à 13 jrs			
20 mgr	0 0 0	0 0 0					20.000 U.N./ml
15 mgr	0 0 0	0 0 0					
10 mgr	0 0 +	0 0 —	0 0 0	0 0 0			
7,5 mgr			0 0 0	0 0 0			
5 mgr	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0			
2,5 mgr			0 0 0	0 0 0			
1 mgr	0 0 0	0 0 0			+		
0,5 mgr			0 0 0	0 0 0		+++	
	Sérum Nha-Trang 144 Titre <i>in ovo</i> = $10^{2,32}$		Sérum Nha-Trang mélange Titre <i>in ovo</i> = $10^{1,92}$		Lecture à 7 jrs		
5 mgr	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	+	+	5.000 U.N./ml(4)
2 mgr	0 0 0	0 0 0	0 0 0	+ 0 0	+	+	
0,5 mgr	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0			
1 mgr	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0			
0,1 mgr	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0			

Quantité de virus inoc (2)	Nature des sérums				Furets témoins (virus seul)	Titre <i>in vivo</i> (3)
	Sérum veau neuf Nha-Trang - Titrage <i>in ovo</i> = 0					
	Premier essai		Deuxième essai			
	Lecture à 7 jrs (1)	Lect. à 13 jrs	Lecture à 7 jrs	Lect. à 13 jrs		
2 mgr	+ + +	+ + +			+ +	
1 mgr	0 0	+ +				
0,5 mgr	0 +	+ +				
0,1 mgr	0 0	0 +				= 0

(1) Légende : O = un furet ne contractant pas la maladie de Carré.

+ = un furet atteint ou mort de maladie de Carré.

(2) La quantité de virus indiqué est la dose, inoculée par furet, après une heure de contact avec 1 ml du sérum sérum pur éprouvé.

(3) La D.M.I. 50 étant voisine de 0,001 mgr de rate infectée, 1 mgr de virus-rate = 1.000 D.M.I. 50. Il s'ensuit que si 1 ml de sérum neutralise 20 mgr de virus son titre est de 20.000 unités neutralisantes au ml (U.N./mP).

(4) Des doses supérieures de virus n'ont pas été utilisées jusqu'ici pour le titrage du sérum Nha-Trang. Il est évident que ce sérum possède un titre *in vivo*, beaucoup plus élevé, qu'il n'est rapporté ici, si l'on se réfère à son titre *in ovo* et à la valeur correspondante *in vivo* du sérum Farcha.

Ajoutons que la neutralisation est absolue. En effet, les furets survivants soumis 1 mois plus tard à une inoculation d'épreuve virulente comportant 1 mgr. de virus rate succombent à l'infection dans les délais normaux.

CONCLUSIONS

Le sérum contre la peste bovine neutralise parfaitement le virus de la maladie de Carré *in ovo* et *in vivo*. Ces résultats confirment donc ceux déjà acquis en matière d'immunisation croisée active entre les virus de la maladie de Carré et de la peste bovine.

Nous nous attachons dès maintenant à rechercher si le sérum contre la maladie de Carré exerce une action neutralisante comparable sur le virus de la peste bovine.

BIBLIOGRAPHIE

1. GORET (P.), MORNET (P.), GILBERT (Y.) et PILET (Ch.) — *C.R. Ac. Sciences*, 245, 1957, p. 2.564.
2. GORET (P.), MORNET (P.), GILBERT (Y.), PILET (Ch.) et CAMARA (T.). — *Bull. Ac. Vét. France*, 31, 1958, p. 163.
3. GORET (P.), MORNET (P.), GILBERT (Y.) et PILET (Ch.). — *Bull. Off. Int. Epiz.*, 49, 1958, p. 501.
4. MORNET (P.), GORET (P.), GILBERT (Y.) et GOUÉFFON (Y.). — *C.R. Ac. Sciences*, 248, 1959, p.
5. POLDING (J.B.) et SIMPSON (R.M.). — *Vét. Rec.*, 69, 1957, p. 583.
6. GORET (P.), FONTAINE (J.), MACKOWIAK (C.) et PILET (Ch.). — *C.R. Ac. Sciences*, 248, 1959, p. 2.143.
7. FONTAINE (J.). — *Bull. Ac. Vét. France*, 32, 1959, p. 81.
8. FONTAINE (J.). — *Bull. Ac. Vét. France*, 32, 1959, p. 89.

DISCUSSION

M. MÉRY. — Est-ce que ce virus immunise également contre la maladie de Carré chez le chien ?

M. GORET. — Je ne l'ai pas fait pour plusieurs raisons. La principale est que je ne voulais absolument pas utiliser en France le virus de la peste bovine chez le chien. Mais la chose a été faite par M. PROVOT à Fort-Lamy ; malheureusement, elle n'a pas été faite de façon expérimentale. M. Provot a prélevé des chiens dans l'aire du laboratoire, leur a injecté le virus de la peste bovine, ce qui n'a aucune importance au moins à Fort-Lamy et les environs, et il s'est rendu compte *grosso modo* que tous les chiens « vaccinés » ne contractaient pas la maladie de Carré, alors que la maladie est extrêmement répandue dans la région. Je pouvais évidemment tenter un essai sur le chien, mais j'avais quelques craintes, on n'isole pas un chien comme un furet. M. GUILLOT pourrait peut-être donner quelques éclaircissements, car je crois que des essais ont dû être tentés au laboratoire de Pathologie Expérimentale de l'Armée.

M. MÉRY. — Les effets sont-ils parallèles à ceux de la maladie de Carré ?

M. GORET. — La chose a été rappelée ici même par notre collègue, M. JACOTOT, qui a évoqué l'ancienne expérience de Morcos, lequel avait transmis la peste bovine au chien par ingestion. On observait chez l'animal des troubles généraux, des troubles gastro-intestinaux, une septicémie et quelquefois même la mort. Morcos avait réinoculé ce virus-chien de la peste bovine à un seul bovin, qui ne réagit point et qui ultérieurement se montra insensible à la peste... Il semble qu'on puisse obtenir, après un certain nombre de passages, une maladie du chien assez significative mais qui, je pense, n'a pas de rapports étroits avec la symptomologie que nous observons dans la maladie de Carré.

M. LE PRÉSIDENT. — Je croyais que M. MÉRY voulait parler de l'action éventuelle du sérum anti-peste bovine à l'égard de la maladie de Carré ; vous avez répondu en parlant uniquement du vaccin. Je vous pose alors la question : avez-vous essayé l'action du sérum de la peste bovine dans la vraie maladie de Carré ? Est-ce que vous l'envisagez dans une expérience de neutralisation *in vitro* ? et aussi *in vivo* ?

M. GORET. — Des essais sont en cours ; ils seront publiés ultérieurement.

M. LE PRÉSIDENT. — Attendons donc cette communication.

Vous nous avez demandé si, effectivement, dans l'armée nous n'avions pas fait quelques essais avec le vaccin anti-pestique lapinisé ? Pour les mêmes raisons que celles que vous venez d'expliquer, on doit être très prudent sur l'emploi de ce vaccin en territoire métropolitain, et c'est la raison pour laquelle les expériences

n'ont pas dépassé le stade du laboratoire ; nous ne pouvons donc pas apporter de renseignements sur la valeur préventive de ce vaccin. A l'heure actuelle, vous nous signalez qu'après un calme de deux ans les cas de maladie de Carré réapparaissent, l'expérience semble démontrer que l'homo-vaccin est véritablement efficace, mais nous serions heureux, éventuellement, puisque nous avons certainement maintenant la maladie de Carré, de vous apporter, si vous voulez bien nous confier des ampoules de sérum, des observations bien suivies, je pense, sur les sujets atteints actuellement de la maladie et qu'on traiterait par le sérum.